

( 続紙 1 )

京都大学	博士 (薬学)	氏名	藤原 裕未
論文題目	生薬の品質評価の基盤となる精油ならびに色素の研究		
(論文内容の要旨)			
<p>生薬は多成分系であり天然物特有の多様性を有するため、品質の規格化と安全性の確保には化学薬品とは異なるアプローチが必要である。我が国の医薬品行政における生薬の取り扱いでは、形態学的手法と種々の理化学的手法により正しい基原が使用されていることを確認し、さらに指標成分等を確認することによりそれらが担保されている。</p> <p>薬用のシソは、葉が赤紫色でシソに特徴的なにおいが強いものが良品とされており、色とにおいは両方が重要な形質である。ソヨウの品質評価においては、第十五改正日本薬局方(日局15)までは確認試験法にテルペン類の呈色反応が採用されていたが、これは化合物群を検出する方法であるため、特徴成分であるペリルアルデヒドを特定することはできず、医薬品として不適格なソヨウが流通する事例もあり健康被害が発生することが懸念されていた。そこで日局16からは、ペリルアルデヒドを定量することでアサロンなど健康上好ましくない成分が含まれないことを担保するように規格化された。</p> <p>本研究では、このシソの品質評価に重要な成分、すなわち、ペリルアルデヒドと赤紫色の色素成分について探求した。ペリルアルデヒドについては、その生合成に関与するシトクロムP450の解明を、また色素成分についてはアントシアニンの種類の多様性について検討した。さらに、生薬のにおいは日本薬局方でその適否の判定基準のひとつとされているが、においと生薬の薬理効果の関係についての知見は少ないことから、生薬のにおいの薬理に関する検討を行った。</p>			
第一章 シソ属植物およびソヨウに含まれるアントシアニン類			
<p>古代中国で編纂された最も充実した薬物学テキストである本草綱目には蘇葉について「葉の両面が赤色で芳香のあるものが良品」とあり、色は蘇葉の品質評価上重要な指標とされてきた。そこでシソに含まれる赤紫色色素であるアントシアニン類を調査した。材料には栽培種のシソ、またレモンエゴマをはじめとする野生種各種とソヨウ市場品、シソを用いた色素製剤を用いた。その結果、栽培種と多くの野生種ではシアニジン骨格の3および5位に結合したグルコースがアシル化されたシアニジン誘導体が主として含有されるが、一部の野生種ではアシル基による修飾が少ないシアニジン誘導体が含有されることが明らかになった。産地や収穫年度の異なるソヨウ市場品を用いた色素成分組成の比較からは、保存に伴う経年変化により、アシル化されたシアニ</p>			

ジン誘導体からアシル基部分が分解された、安定性の低いシアニジン誘導体へと変化することが判明した。

## 第二章 シソ属植物のペリルアルデヒド生合成に関わるシトクロムP450の同定

蘇葉に特徴的な精油成分はペリルアルデヒドである。ペリルアルデヒドはゲラニル二リン酸からリモネンを経て生合成されるが、その過程にはシトクロムP450による酸化還元反応が含まれると予想される。本研究では、異なる精油型のシソ純系に発現している遺伝子ライブラリーの比較をもとに、ペリルアルデヒド生成に関わるシトクロムP450を同定した。酵母を用いた異種発現系では、この酵素はリモネンを基質としてペリルアルコールおよびペリルアルデヒドを生成する反応を触媒した。

## 第三章 生薬類のにおい吸入投与による自発運動抑制活性評価

蘇葉は漢方では利気剤として各種処方に配合されるが、利気剤とされる生薬には他に薄荷、桂皮、藿香など、いずれにもにおいが強い生薬が挙げられる。そこで生薬のにおいに薬理活性はあるのか、またその活性は多成分系にしたときどう変化するのかなどについて検討した。8種の生薬類（山奈、藿香、白檀、甘松香、桂皮、丁子、大茴香、龍脳）の精油について、オープンフィールド法を用いたマウスへの吸入投与により自発運動抑制活性を評価した。その結果、8種のうち山奈、藿香、白檀、甘松香、龍脳の5種において自発運動量が有意に減少し、鎮静活性があることが示唆された。これら5種を混合して同様の効果の検討を行ったところ、各種の単独投与群よりも大きな運動量の減少がみられ相乗効果があることが示唆された。この5種の混合物に、活性がみられなかった桂皮、丁子、大茴香をそれぞれ最も自発運動量が少なかった濃度で混合したところ、混合割合が低いにもかかわらず鎮静活性は予想以上に低下することを見出した。

以上、申請者は蘇葉の基原であるシソについて、二次代謝成分の生合成の面からは精油成分ペリルアルデヒド合成に関わるシトクロムP450について、天然物化学の面からはアントシアニン類の多様性について、それぞれ新たな知見を得た。また生薬薬理学的手法により、生薬類のにおいに実験的有意差のある活性が観測されていること、さらにその活性が複雑系では相乗効果があることを見出した。生薬を医薬品として利用する際には、化学薬品とは大きく異なるその特徴を理解し利活用していく必要がある。特に生薬と化学薬品をひとつの法的規制のもとに管理する我が国では、その総合的な理解が必須である。本研究の成果は、既報の知見と合わせて考察、理解することで、生薬特有の複雑系を基盤とした研究やレギュレーションに大いに利活用される知見であると考えられる。

(続紙 2 )

(論文審査の結果の要旨)

本研究では、このシソの品質評価に重要な成分であるペリラルデヒドおよび赤紫色の色素成分について探求した。ペリラルデヒドについては、その生合成に関与するシトクロムP450の解明を、また色素成分についてはアントシアニンの種類の多様性について検討した。さらに、生薬のにおいは日本薬局方でその適否の判定基準のひとつとされているが、においと生薬の薬理効果の関係についての知見は少ないことから、生薬のにおいの薬理に関する検討を行った。

まず、シソに含まれる赤紫色色素アントシアニン類を調査した。材料には栽培種のシソ、またレモンエゴマをはじめとする野生種各種とソヨウ市場品、シソを用いた色素製剤を用いた。その結果、栽培種と多くの野生種ではシアニジン骨格の3および5位に結合したグルコースがアシル化されたシアニジン誘導体が主として含有されるが、一部の野生種ではアシル基による修飾が少ないシアニジン誘導体が含有されることが明らかになった。産地や収穫年度の異なるソヨウ市場品を用いた色素成分組成の比較からは、保存に伴う経年変化により、アシル化されたシアニジン誘導体からアシル基部分が分解された、安定性の低いシアニジン誘導体へと変化することが判明した。

次に、異なる精油型のシソ純系に発現している遺伝子ライブラリーの比較をもとに、ペリラルデヒド生成に関わるシトクロムP450を同定した。酵母を用いた異種発現系では、この酵素はリモネンを基質としてペリラルアルコールおよびペリラルデヒドを生成する反応を触媒した。

さらに、8種の生薬類(山奈、藿香、白檀、甘松香、桂皮、丁子、大茴香、龍脳)の精油について、オープンフィールド法を用いたマウスへの吸入投与により自発運動抑制活性を評価した。その結果、8種のうち山奈、藿香、白檀、甘松香、龍脳の5種において自発運動量が有意に減少し、鎮静活性があることが示唆された。これら5種を混合して同様の効果の検討を行ったところ、各種の単独投与群よりも大きな運動量の減少がみられ相乗効果があることが示唆された。この5種の混合物に、活性がみられなかった桂皮、丁子、大茴香をそれぞれ最も自発運動量が少なかった濃度で混合したところ、混合割合が低いにもかかわらず鎮静活性は予想以上に低下することを見出した。

以上、申請者は蘇葉の基原であるシソについて、二次代謝成分の生合成の面からは精油成分ペリラルデヒド合成に関わるシトクロムP450について、天然物化学の面からはアントシアニン類の多様性について、それぞれ新たな知見を得た。また生薬薬理学的手法により、生薬類のにおいに実験的有意差のある活性が観測されていること、さらにその活性が複雑系では相乗効果があることを見出した。

よって、本論文は博士(薬学)の学位論文として価値あるものと認める。また、平成30年6月5日、論文内容とそれに関連した事項について試問を行った結果、合格と認めた。